云 南 植 物 研 究 8(3): 323—332, 1986
Acta Botanica Yunnanica

重楼属植物的免疫血清学研究*

季本仁 李 恒 冯唯诚 段金玉

(中国科学院昆明植物研究所)

摘要 以海南重楼(*Paris dunniana*), 花叶重楼(*P. marmorata*), 多叶重楼 (*P. polyphylla*), 凌云重楼 (*P. cronquistii*), 五指莲 (*P. axialis*), 滇重楼(*Paris polyphylla* var. *yunnanensis*)等六种重楼属植物的根茎为材料, 提取分离其球蛋白组份作为抗原, 免疫家兔得到相应的抗血清。通过免疫双扩散, 聚丙烯酰胺凝胶电泳、免疫电泳、免疫吸收试验以及酶标免疫等方法, 研究了重楼属上述六个种和变种的血清学行为以及他们之间的相互关系。在此基础上, 用不加权算术平均对群法(UPGMA) 经成聚运算, 得到基于平均吸收相似系数(Sabs. mean.) 和Jaccard's 结合系数的两种表相图, 这两种表相图的结果是一致的。花叶重楼与多叶重楼有较大的血清反应相似性, 五指莲与滇重楼有最大的血清反应相似性。多型种*P. polyphylla*在形态上的较大变异与血清反应分析的结果是一致的, 而且血清反应相似性分析支持了从形态分析得出的假设: *Paris dunniana* 在重楼属的系统发生中是一比较原始的种。

关键词 重楼属; 血清学分析; 表相图

由于近代免疫化学的飞速发展, 它的研究技术和方法已经渗透到生物科学的各个研究领域中来, 这在植物分类学和植物系统学的研究中也不例外[7]。免疫化学在植物分类和系统发生研究中的应用, 虽然其最早的历史可以追溯到本世纪初Mez学派的开拓性工作, 但只是当半固相介质中免疫扩散技术和免疫吸收技术发展并趋于完善、特别是澄清了所谓非系统交叉反应 (asystematic cross-reactions) [7]的机制之后, 才获得了长足的发展。近三十年来, 涉及600多个分类单位 (包括目到变种) 的大量植物血清学的资料, 不同程度地补充、修正和丰富了用其它方法所得到的有关植物分类和系统学的结论。诸如Takhtajan、Cronquist、Thorne、及Dahlgren等作者的分类系统, 都在不同程度上受到植物血清学研究结果的影响[4、7、8]。

重楼属 (*Paris* L.) 植物属于延龄草科, 前已报道[1], 由于属内不同类群内在某些形态性状上存在较大变异, 而不同类群间形态性状的进化速度又不同步, 这给属下分类单位的划分、以及研究它们的系统发生增加了困难。尽管如此, 根据花基数、雄蕊数与心皮数之比值, 胎座种类等特征, 还是能得到这一植物类群的分类及系统发育较为清晰的轮廓。本文试图在上述研究的基础上, 用免疫化学方法, 探讨本属几种植物的血清学关系及其在本属植物分类和系统发生研究方面的意义。

本文于1986年1月22日收到。

* 本工作由中国科学院自然科学基金资助。

材料和方法

取海南重楼（*Paris dunniana*），花叶重楼(*P. marmorata*)，多叶重楼(*P. polyphylla*)，凌云重楼(*P. cronquistii*)，五指莲(*P. axialis*)，滇重楼(*P. polyphylla* var. *yunnanensis*) 6种重楼属植物的多年生根茎为材料，经液氮冷冻、粉碎，以pH＝7.2、0.15M的磷酸缓冲盐水提取，经50％饱和度的硫酸铵沉淀、脱盐并冷冻干燥得到球蛋白部分。用这种多组份的球蛋白为抗原，免疫家兔。免疫的程序、抗原量、途径同前报[2]。经一次基础免疫，两次强化免疫，得到相应的抗血清。抗原组份分析采用聚丙烯酰胺凝胶电泳。免疫电泳介质为琼脂糖A（Agarose A, Pharmacia），电泳操作在FBE-Immuno（Pharmacia)免疫电泳装置上进行，缓冲液系统为pH＝8.5，离子强度0.06二乙基巴比妥酸钠-盐酸缓冲液。免疫吸收于pH＝7.2的PBS溶液中进行，通过分步加入吸收抗原、沉淀，高速离心，直到吸收抗血清对吸收抗原的免疫电泳呈阴性反应为止。免疫双扩散于0.85％NaCl的离子琼脂糖中进行。酶标免疫亲和力测定用酶标抗体直接法[5、6]。

结果和讨论

抗原的凝胶电泳分析

用上述的分离方法得到的球蛋白部分是一个多种蛋白组份的混合物，植物血清学的研究表明[7]，多组份的抗原与单一、纯化的抗原相比，在研究属下的分类单位时有较高的分辨力。表1.列出供试的6个种和变种的抗原、经电泳后各个组份的R_f值分布情况，而图1表示各个条带的相对位置和量。从表1可以看出，每个种都有各自的特征区带分布，这是进行免疫血清试验的出发点；另一方面可以看出，所比较的6种重楼属植物的某些区带，如1、3、5、8和11，尽管它们在相对含量上并不一致（扫描数据未列出），但不同植物间却有几乎完全相同的迁移率。可以认为这样的条带中，至少有一些是同源蛋白甚至是相同的蛋白，这一点为以后的免疫电泳，免疫吸收试验所证实。这是重楼属植物共同起源的生物化学根据。试验中发现，这些抗原的冻干制品在－18°C下保存15个月后检查，其电泳行为无明显变化，这为在较长时间内进行分析研究提供了比较一致的条件。

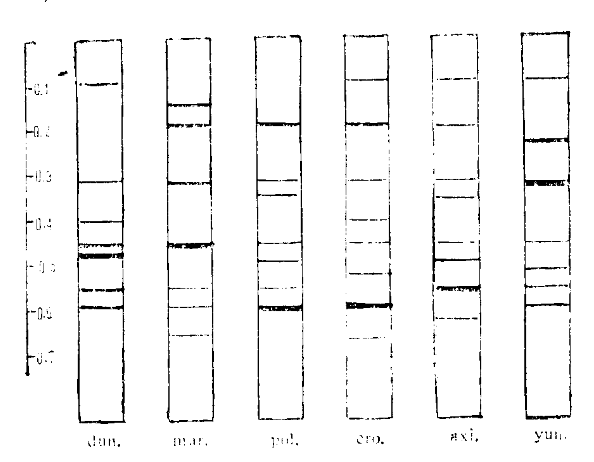


图1. 重楼属植物根茎球蛋白组份的聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

Fig. 1. PAGE of root stock globulin of six apecies of *Paris* genus. *Paris dunniana* = dun; *P. marmorata* = mar; *P. polyphylla* = pol; *P. cronquistii* = cro; *P. axialis* = axi; *P. polyphylla* var. *yunnanensis* = *yun*.

表1　重楼属植物球蛋白组份的电泳迁移率

Table 1. Rf values of PAGE various bands in *Paris* plant globulin components.

Bands No.	Paris dunniana	Paris marmorata	Paris polyphylla	paris cronqustii	Paris axialis	Paris polyphylla var. yunnanensis
1	0.10			0.10	0.10	0.10
2		0.15				
3		0.20	0.20	0.20	0.20	
4						0.24
5	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
6			0.35		0.36	
7	0.41			0.41		
8	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
9	0.48	0.48	0.50		0.50	0.52
10	0.56	0.56	0.56	0.53	0.56	0.56
11	0.60	0.60	0.60	0.60		0.60
12		0.66		0.67	0.63	

免疫双扩散试验

各种试验抗原与参考抗血清的免疫双扩散试验，采取抗原孔配布于血清槽两侧的安排。从图版Ⅰ（1—7）能够看出，六种参考血清与七种试验抗原之间有极为强烈的交叉反应。这表明所试验的七种重楼属植物中存在同源抗原。而从沉淀线的位置和强度可以判断，这些同源抗原的量以及他们的抗原性都较高。从对于抗五指莲血清的双扩散图（图版Ⅰ，6）分析，至少有两种抗原是所有供试植物都存在并且是同源的，其中近血清槽的这条沉淀弧的抗原，由于是无分枝连接，很可能是同种抗原。在存在强烈的、涉及所有七种重楼属植物的交叉反应的同时，不同试验抗原与同一种参考血清的反应是不相同的。最明显的是*P. polyphylla* var. *yunnanensis*和*P. axialis*这两种抗原在和抗*P. axialis*血清以及抗*P. polyphylla* var. *yunnanensis*反应时，在两种情况下都呈现出极强的交叉反应，反应的沉淀弧强度是任何别的供试植物所不及的。（图版Ⅰ，6、7）这表明这两个种之间在血清学反应上的极高的相似性，这一点为免疫吸收试验进一步所证实。同样*P. mamorata*和*P. fargesii*两者之间的交叉反应也是令人注目的（图版Ⅰ，2、6），这两种植物抗原在与抗*P. marmorata*反应时都有极强的沉淀弧，这种血清反应上的相似性与它们在形态上的相似性是十分平行的。

免疫电泳

如果说免疫双扩散试验所提供的信息更多的是说明本属植物极高的共性，那末由于免疫电泳有高得多的分辨力，它所提供的资料却能表明这些植物的特征差别。在免疫电泳中，不同抗原对同一参考血清的电泳图谱固然各异，即使同一抗原对不同参考血清的电泳图谱也不尽相同（图版Ⅰ，8，示意图2）。这种现象的出现是由于进行比较的抗原系统间，他们在各种组份的构成，不同组份的一级结构以及构象上差异，相对含量的不同，免疫原性强弱不同等因素综合在一起，便赋以这些抗原系统各自的特异性；同时也还由于试验动物个体差异而造成免疫反应的差异。前者是重楼属植物得以在种或

变种间进行血清学比较研究的基础，后者是比较不同抗原系统血清反应相似性试验设计不容忽视的因素。因此，通过比较和综合不同抗原系统在多种参考血清中的电泳图谱，可以得到每个抗原系统的特征性图谱（图3）。这些图谱在实验条件大致相同的条件下，有较高的重现性。当比较这些图谱后，并且联系考虑聚丙烯酰胺电泳和免疫双扩散的结果，可以判定六种重楼属植物的1号和2号弧是同源的。而别的电泳弧的相似性关系就比较错综复杂，判定他们之间的相似性关系，看来不是仅就免疫电泳能够做到的。但是，当比较同一抗原在不同抗血清系统中的电泳图谱时，却能揭示不同参考血清系统之间的相似性。试验中看到，*P. axialis*的抗原系统在其参考血清中得到的电泳图谱和在抗*P. polyphylla* var. *yunnanensis*血清中的几乎完全一致；反之，当*P. polyphylla* var. *yunnanensis*抗原系统在其参考血清中的电泳图谱和在抗*P. axialis*血清中的也极为相似，这说明抗*P. axialis*血清和抗*P. polyphylla* var. *yunnanensis*血清有很好的相似性。这种现象也发生于*P. dunniana*和*P. marmorata*之间。

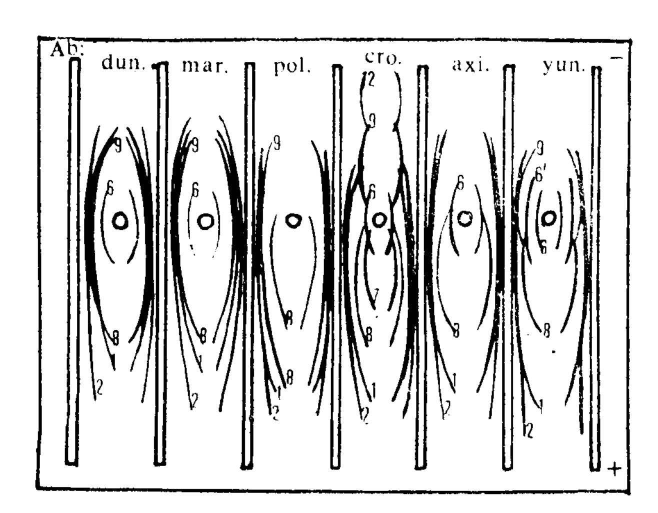


图2. P. cronquistii 抗原系统于不同抗血清中的免疫电泳图，Ab＝抗血清

Fig. 2. The diagrams of immunoelectrophoresis patterns of P. cronquistii antigen systen in various antisera against six *Paris* taxon. Ab = antiserum

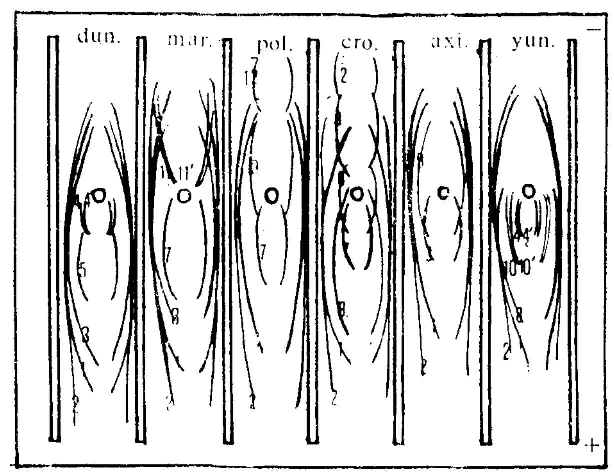


图3. 重楼属六种抗原系统的免疫电泳图

Fig. 3. The diagram of immunoelectrophoresis patterns of six taxon of *Paris*.

免疫吸收结合免疫电泳试验

从免疫双扩散和免疫电泳结果可以看出，重楼属的这几个种互相交叉反应十分突出。为了更进一步研究他们之间的关系，不得不借助于免疫吸收技术，通过吸收去除有交叉反应的同源组份，留下特异组份才能使掩盖了的相互关系显露出来。然而如果像通常那样仅将免疫吸收与双扩散结合，并根据支线鉴别（spur identification）分析是无法实现上述目标的。这是因为在双扩散试验中已看到，一方面分辨力较低，难以在较精细的程度上分析相互关系，另外在安排扩散试验时，排列和组合数也偏多。本试验尝试用吸收技术结合免疫电泳得到较满意的结果。试验中将六种抗血清逐个被六种抗原吸收后，分别对六种抗原系统进行免疫电泳，记录电泳结果，统计电泳弧数(表2—表7)。考虑到试验中经吸收后1、2号弧在所有情况下都不再出现，而这两条弧却是强度最大

的，而剩下的电泳弧在反应强度上基本一致，因此可以认为弧数的多少直接反映了吸收血清与反应抗原的反应强度。按Lester的方法[10]，计算阴性反应吸收相似系数（Sno• neg），阳性吸收相似系数（Sno. pos），阳性反应沉淀量相似系数（Sppt. pos.），最后计算平均吸收相似系数（Sabs. mean），试验结果以及这些系数列表于表2—表7。吸收后的血清与抗原的电泳，每次都有全血清与吸收抗原做对照，只统计吸收完全的血清进行免疫电泳的结果（图版 I，9）。

表 2　参考血清：抗*P*. *marmorata*血清

Table 2. Refrence serum: anti-*P*. *marmorata* (mar.)

反应抗原	吸收抗原 Absorbent						archs No.	Sno. ppt.	Sno. pos.
Reactant	dun.	mar.	pol.	cro.	axi.	yun.			
dun.	0	2	2	1	2	2	9	1.0	1.0
mar.	1	0	3	2	2	2	9	1.0	1.0
pol.	3	0	0	2	2	2	9	1.0	0.67
cro.	2	0	1	0	1	2	6	0.67	0.67
axi.	0	1	1	1	0	0	3	0.33	0.50
yun.	0	1	1	0	0	0	3	0.33	0.33
Sno. neg.	1.0	1.0	0.3	0.67	0.67	0.67			
Sabs. mean.	1.0	1.0	0.57	0.67	0.54	0.50			

表 3　参考血清：抗*P*. *dunniana*血清

Table 3. Refrence serum: anti-*P*. *dunniana* (dun.)

反应抗原	吸收抗原 Absorbent						archs No.	Sno. ppt.	Sno. pos.
Reactant	dun.	mar.	pol.	cro.	axi.	yun.			
dun.	0	4	3	3	1	1	12	1.0	1.0
mar.	0	0	0	1	0	0	1	0.1	0.2
pol.	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
cro.	0	1	1	0	0	0	2	0.2	0.4
axi.	1	1	1	0	1	1	5	0.42	1.0
yun.		1	1	2	0	0	4	0.33	0.6
Sno. neg.	1.0	0.4	0.4	0.4	1.0	0.8			
Sabs. mean.	1.0	0.28	0.20	0.35	0.86	0.63			

表 4　参考血清：抗*P*. *polyphylla*血清

Table 4. Refrence serum: anti-*P*. *polyphylla* (pol.)

反应抗原	吸收抗原 Absorbent						archs No.	Sno. ppt.	Sno. pos.
Reactant	bun.	mar.	pol.	cro.	axi.	yun.			
dun.	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
mar.	1	0	0	0	0	0	1	0.25	0.33
pol.	2	0	0	1	1	0	4	1.00	1.00
cro.	1	0	0	0	0	0	1	0.25	0.33
axi.	2	0	0	0	0	0	2	0.50	0.33
yun.	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
Sno. neg.	0.33	1.0	1.0	0.83	0.83	1.0			
Sabs. mean.	0.17	0.65	1.0	0.56	0.62	0.50			

表5 参考血清：抗*P. cronquistii*血清

Table 5. Refrence serum: anti-*P. cronquistii* (cro.)

反应抗原 Reactant	吸收抗原 Absorbent dun.	mar.	pol.	cro.	axi.	yun.	archs No.	Sno. ppt.	Sno. pos.
dun.	0	0	2	0	1	1	4	0.21	0.60
mar.	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
pol.	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
cro.	4	4	4	0	3	4	19	1.00	1.00
axi.	0	0	1	0	0	0	1	0.05	0.20
yun.	1	0	0	0	0	0	1	0.05	0.20
Sno. neg.	0.67	0.83	0.50	1.00	0.67	0.67			
Sabs. mean.	0.54	0.42	0.25	1.00	0.40	0.40			

表6 参考血清：抗*P. axialis*血清

Table 6. Refrence serum: anti-*P. axialis* (axi.)

反应抗原 Reactant	吸收抗原 Absorbent dun.	mar.	pol.	cro.	axi	yun.	archs No.	Sno. ppt.	Sno. pos.
dun.	0	2	2	1	1	0	6	0.75	1.00
mar.	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
pol.	0	1	1	0	0	0	2	0.25	0.50
cro.	0	2	2	0	1	0	5	0.63	0.75
axi.	2	2	2	2	0	0	8	1.00	1.00
yun.	1	1	1	2	0	0	5	0.63	1.00
Sno. neg.	1.00	0.25	0.25	0.75	1.00	1.00			
Sabs. mean.	0.93	0.13	0.31	0.72	1.00	0.90			

表7 参考血清：抗*P. polyphylla* var. *ynnanensis*血清

Table 7. Refrence serum: anti-*P. polyphylla* var. *ynnanensis* (yun.)

反应抗原 Reactant	吸收抗原 Absorbent dun.	mar.	pol.	cro.	axi.	yun.	archs No	Sno. ppt.	Sno. pos.
dun.	0	1	1	1	0	0	3	0.38	0.75
mar.	0	0	2	0	0	0	2	0.25	0.25
pol.	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
cro.	1	1	1	0	0	0	3	0.38	0.75
axi.	2	2	2	2	0	0	8	1.00	1.00
yun.	1	2	2	2	0	0	7	1.00	1 00
Sno. neg.	0.50	0.33	0.16	0.50	1.00	1.00			
Sabs. mean.	0.53	0.28	0.08	0.57	1.00	1.00			

血清反应相似性的表相学分析

建立在吸收技术上的免疫电泳结果，直接反映了各种抗原-抗体系统的相似性程度，因而这些结果如用合适的分析方法，便能引出比较可信的结论。近年来得到迅速发展的数量分类学方法便是属于这样的工具[11]。综合表2—表7的数据，可以得到一个六种抗原系统之间血清反应相似性系数的半矩阵（表8），用不加权算术平均对群法（UPGMA），进行成聚运算（clustering）[11]，产生一个基于平均吸收相似系数，反映重楼属供试的六种植物间的血清反应相似性的表相图（phenetic dandrogram）（图4）。在此同时，我们将试验结果根据Jaccard's结合系数也进行了表相分析[9]，得到一个半矩阵（表9），用样也用UPGMA法，经成聚运算绘出基于Jaccard's系数的六种供试植物间的血清反应相似性表相图（图5）。用Jaccard's系数处理血清学试验的数据不同于平均吸收相似系数的主要点是：前者不考虑吸收血清与反应抗原间的反应强度，因此只统计二元编码性状；其次是供比较的分类单位间共同表现为阴性反应的性状不予统计；此外后者只比较反应抗原与参考抗原系统，但前者却在所有供试抗原系统间进行比较。尽管两者在运算上存在着上述这些差异，因而这两组表相图的相似系数绝对值也不同，但是各分类单位间的相似性关系，成聚结果却惊人地一致。在基于平均吸收相似系数的表相图中，*P. axialis*与*P. polyphylla* var. *yunnanensis*有最大的相似性，相似系数为95%，其次是*P. polyphylla*与*P. marmorata*为61%。在进一步成聚时，*P. dunniana*和*P. cronquistii*更相似于*P. axialis*和*P. polyphylla* var. *yunnanensis*这种趋势在Jaccard's系数的表相图上也是如此，并且与酶标记亲和力测定也是完全一致的。这些结果表明，*P. polyphylla*作为一个形态上的多型种，种下有8个以上的变种，这些变种间在形态上的较大范围的变异与现在的血清学结果是一致的，同属*P. polyphylla*的*P. polyphylla* var. *yunnanensis*与*P. axialis*相近，而*P. polyphylla*却与*P. marmorata*有较高的相似性。这一点启示，深入研究*P. polyphylla*这个多型种，可能会为*Paris*系统发生和分类研究提供有益的资料。而更为有趣的是，当考察*P. dunniana*的血清学资料，分析基于平均吸收相似系数的半矩阵（表8）发现，在成聚之后得到的两个相似群，即*P. marmorata*，*P. polyphylla*和*P. cronquistii*，*P. axialis*，*P. polyphylla* var. *yunnanensis*中，唯有*P. dunniana*与这两个相似群的成员同时都有较高的相似系数。如*P. dunniana*与*P. axialis*是0.93而同时与*P. mamorata*也达到0.64，这只有当*P. dunniana*在系统发生上处于较低的进化位置时才会出现这种结果。这一点与李恒根据形态学所得到的结论是一致的。而属于中轴胎座亚属的*P. axialis*与属于侧膜胎座亚属的*P. polyphylla* var. *yunnanensis*有较高的血清相似性，可能表明*P. axialis*在进化上与别的中轴亚属的其他分类单位相比更接近侧膜胎座亚属。

免疫酶标记分析

酶标免疫技术（ELISA）作为生物成份的微量检测手段，近年来在生物科学各个领域都得到广泛的应用，但在植物血清分类研究中的应用尚未见报道。本文作者在这方面只是做了一些极为初步的探索。试验中观察到在免疫双扩散试验和免疫电泳中，参考抗血清与参考抗原之间总有最强的反应，这无疑是不同抗原-抗体系统之间在亲和力上

表8 重楼属植物平均吸收相似系数矩阵

Table 8. Matrix of Absorption Similarity coefficient (Sabs. mean) values between the *Paris* plant for producing antibody systems

	dun.	mar.	pol.	cro.	axi.	yun
dun.	1.00					
mar.	0.64	1.00				
pol.	0.19	0.61	1.00			
cro.	0.45	0.55	0.41	1.00		
axi.	0.93	0.34	0.47	0.56	1.00	
yun.	0.58	0.39	0.29	0.47	0.95	1.00

表9 重楼属植物Jaccard's系数矩阵

Table 9. Matrix of values of Jarccard's coefficient between six species of *Paris* tested

	dun.	mar.	pol.	cro.	axi.	yun.
dun.	1.00					
mar.	0.34	1.00				
pol.	0.25	0.57	1.00			
cro.	0.50	0.45	0.40	1.00		
axi.	0.53	0.41	0.36	0.45	1.00	
yun.	0.51	0.41	0.33	0.50	0.79	1.00

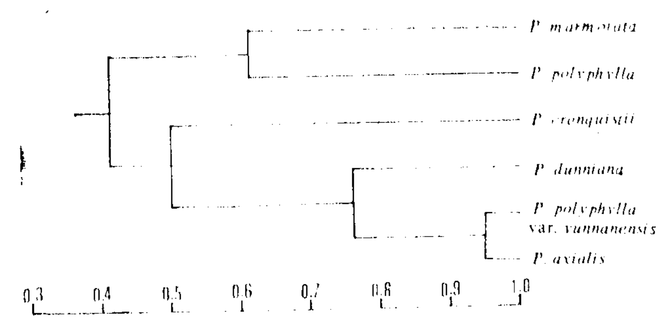


图4. 重楼属几个种的血清学关系表相图，根据Sabs. mean.用UPGMA法成聚运算。

Fig. 4. Dendrogram of the phenetic similarity between species of *Paris* based on Sabs. mean and UPGMA clustering

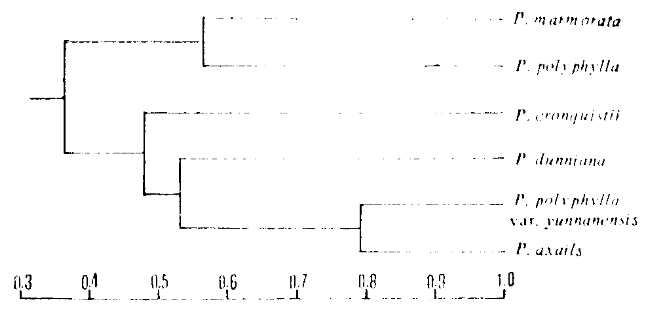


图5. 重楼属几个种的血清学关系表相图，根据Jaccard's系数，用UPGMA法成聚运算。

Fig. 5. Dendrogram of the phenetic similarity of srological relationships between species of *Paris* based on Jaccard's coefficient and UPGMA clustering.

存在差异的缘故，这是各种液相免疫定量沉淀方法研究不同分类单位间血清学关系的基础[8]。本实验正是根据这一现象，使用固相酶免疫竞争法，将参考抗原*P. dunniana*以3.5μg/ml浓度在聚苯乙烯免疫吸附板上进行包埋，定量加入辣根过氧化物酶标记的抗*P. dunniana*纯化免疫球蛋白(HRP-IgG)，接着加入一系列不同浓度的反应抗原，与包埋在吸附板上的参考抗原竞争结合 HRP-IgG，最后以 HRP的底物测定结合于包埋板上的HRP-IgG量，得到各种抗原对参考抗原的竞争结合抑制曲线(图6)。这些竞争抑制

曲线表明，测试的五种抗原系统可以分为两组：一组是*P. marmorata*和*P. polyphylla*另一组是*P. dunniana*，*P. axialis*和*P. cronquistii*。前者对抗*P. dunniana*亲和力较低而后者较高。亲和力大小的顺序是：*P. dunniana*>*P. axialis*>*P. cronquistii*>*P. marmorata*>*P. polyphylla*。这和以前用免疫吸收技术结合免疫电泳的结果完全吻合。当然从图6也能看到，在低浓度区的分辨力还较低，高浓度区对*P. duniana*，*P. axialis*和*P. cronquistii*的分辨力也还不理想，这大概应归之于这些抗原系统间存在极强的交叉反应。可以设想，由于酶标记免疫技术本身的特点，如果能和适当的吸收技术结合起来，可能会发展为一种超微量植物血清分类研究的新方法。

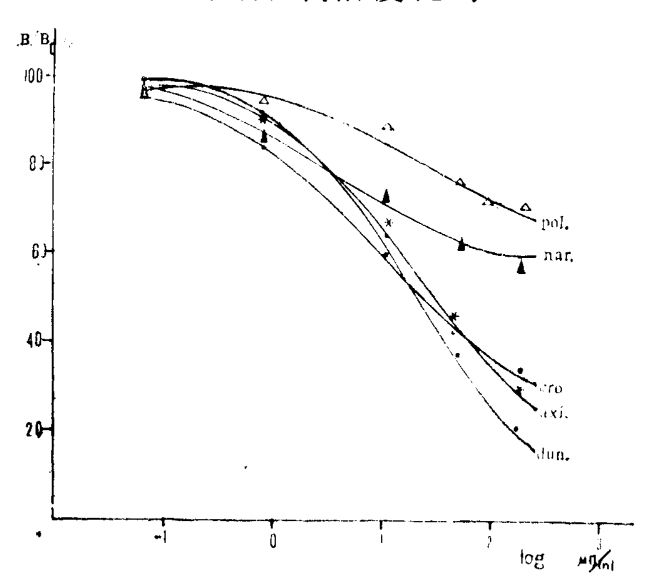


图6．各种重楼属植物的抗原对抗*P. dunniana*抗体与包埋于吸附极表面的*P. dunniana*抗原结合的竞争抑制曲线　横轴：竞争抗原浓度的对数，纵轴：最大结合量的百分数

Fig. 6. Inhibition of binding of anti-*P. dunniaua* to wells coated with *P. dunniana* antigen by soluble proteins of various antigens *Paris* plant.

综上所述，以重楼属植物多年生根茎的多组份球蛋白作为抗原，用多种免疫化学方法研究了重楼属内一些分类单位的血清学关系，结合数量分类学的分析方法得到的结论是一致的。这些结论与从形态学所得到的结论在一些方面是一致的，而在另外一些方面并不如此，这是因为生物种在形态进化速度和生物化学进化速度并不同步所造成的结果[9]。重楼属至少有18个以上的种，只有在得到有关这些种的更多的血清学资料，才能进行血清学关系比较全面的表相学的（phenetic）和分支学的（cladistic）分析，由这样的分析得到的结论，必将对这一类群的分类和系统发生研究提供有价值的资料。

参 考 文 献

〔1〕李恒，1984：云南植物研究，6（4）：351—362。

〔2〕季本仁、段金玉，1986：云南植物研究，8（2）：193—200。

〔3〕Clausen, J., 1982: Immunochemical Techniques for the Identification and Estimation of Macromolecules, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdan New York Oxford, pp. 89—119.

〔4〕Dahlgren, R., (Jensen, U. & B. E. Fairbrothers, eds.), 1983: Protiens and Nucleic Acids in Plant Systematics, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp. 371—394.

〔5〕Engvall, E. (H. V. Vunakis, ed.), 1980: Methods in Enzymology. Vol. 70. Academic Press, New York London Torento Sydney San Francisco, pp. 419—439.

〔6〕Fairbrothers, D. E., T. J. Mabry, R. L. Scogin and B. L. Turner, 1975: *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 62:765—800.

〔7〕Fairbrothers, D. E., 1977: *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 64:147—160.

〔8〕Jensen, U. & D. E. Fairbrothers, 1983: Proteins and Nucleic Acid in Plant Systematics. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo.

〔9〕 Kimura, M., 1983: The Neutral Theory. Cambridge University Press, Cambridge London New York New Rochelle Melbourne Sydney, pp. 55—97.
〔10〕 Lester, R. N. (U. Jensen & D. E. Fairbrothers, eds.), 1983: Proteins and Nucleic Acids in Plant Systematics. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp. 275—300.
〔11〕 Sneath, P. H. & R. R. Sokal (eds.), 1973: Nemerical Taxonomy. W. H. Freeman & company, San Francisco.

SEROLOGICAL INVESTIGATION OF SOME TAXA OF PARIS GENUS

Ji Benren, Li Hen, Feng Weichen and Duan Jinyu
(*Kunming Institute of Botany, Academia Sinica*)

Abstract The immunological relationships of six taxa of *Paris* genus were investigated using their root stock globulin components as the antigens and employing poly-acrylamine gel electrophoresis (PAGE), immunodiffusion, immunoelectrophoresis (IEP), IEP combined with absorption technique and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The dendrograms of immunological relationship calculated by Mean Absorption Similarity Coefficient (Sabs. mean) and Jaccard's coefficient were generated. The results obtained using above two coeffecients were both the same. The result based on ELISA also matched the one by Jaccard's and Sabs. mean well. Serological data supported the assumption that the *P. dunniana* section is a primitive group in the phylogeny of *Paris*.

Key words *Paris*; Serological analysis; Phenetic dendrogram

Explanation of plate I

Plate I: Immunodiffusion, Immunoelectrophoresis of refrence antisera and absorbed antisera to antigen systems of *Paris*.

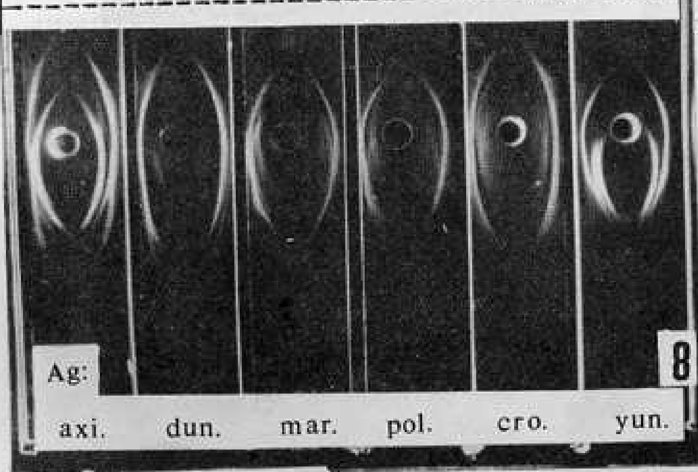
1—7. Immunodiffusion. The number on the left end of trough shows the antiserum for double diffusion, while ones by the wells show antigen systems.

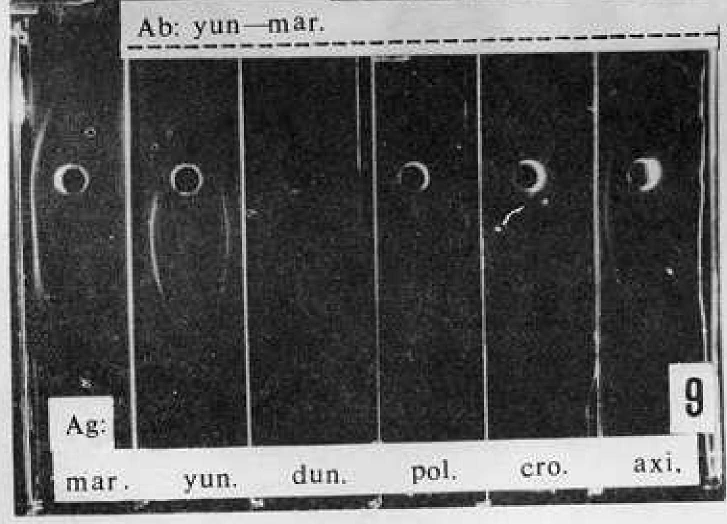
1 = *P. dunniana*, 2 = *P. marmorata*, 3 = *P. fargesii*, 4 = *P. polyphylla*, 5 = *P. cronquistii*, 6 = *P. axialis*, 7 = *P. polyphylla* var. *yunnanensis*

8. Immunoelectrophoresis patterns of antigen systems of Paris to the serum against *P. axialis*.

9. Immunoelectrophoresis patterns of antigen systems of *Paris* to the antiserum of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* absorbed by *P. marmorata* antigen system.

Ab: antiserum, Ag: antigen systems.





1—7：免疫双扩散。血清槽左端数字指抗血清种类，抗原孔数字指抗原种类。 1 = *P. dunniana*, 2 = *P. marmorata*, 3 = *P. fargesii*, 4 = *P. polyphylla*、5 = *P. cronquistii*, 6 = *P. axialis*, 7 = *P. polyphylla* var. *yunnanensis*.

8 = 抗*P. axialis* 血清对各种抗原的免疫电泳。

9. 抗*P. marmorata* 血清及其吸收血清对各种抗原的免疫电泳。 Ab: 抗血清；Ag 抗原。 yun—mar: 指抗 yun 血清经 mar 抗原吸收。